



**61. ročník**

**2024/2025**

**NÁRODNÍ KOLO**

**Kategorie A/E**

---

**Teoretická část – Zadání**

240 univerzálních bodů (60 bodů kat. A, 40 bodů kat. E)

210 minut



## Vzorečkovník

Obvod a obsah kruhu $o = 2\pi r \quad S = \pi r^2$	Povrch a objem koule $S = 4\pi r^2 \quad V = \frac{4}{3}\pi r^3$
Energie fotonu $E = h\nu = \frac{hc}{\lambda}$	Kinetická energie $E_k = \frac{1}{2}mv^2$
Definice pH $\text{pH} = -\log[\text{H}^+]$	Změna Gibbsovy energie a změna entalpie a entropie $\Delta G = \Delta H - T\Delta S$
Standardní reakční změna Gibbsovy energie a rovnovážná konstanta $\Delta G^\circ = -RT \ln K$	Změna Gibbsovy energie a elektrodový potenciál $\Delta G = -zFE$
van't Hoffova rovnice $\ln K_2 - \ln K_1 = -\frac{\Delta H}{R} \cdot \left(\frac{1}{T_2} - \frac{1}{T_1}\right)$	Vyjádření energie v jednotkách teploty $E [\text{K}] = \frac{E [\text{J}]}{k_B}$
Výpočet energie z vlnočtu ( $\text{m}^{-1}$ ) $E = h \cdot c \cdot \tilde{\nu}$	Výpočet energie z náboje a napětí $E = e \cdot U$
Stavová rovnice ideálního plynu $p \cdot V = n \cdot R \cdot T$	Parciální tlak $p_i = x_i \cdot p_{\text{tot}}$
Rovnovážná konstanta pro reakci $p \text{ P} + q \text{ Q} \rightarrow r \text{ R} + s \text{ S}$ $K = \frac{a_{\text{eq}}^r(\text{R}) \cdot a_{\text{eq}}^s(\text{S})}{a_{\text{eq}}^p(\text{P}) \cdot a_{\text{eq}}^q(\text{Q})}$	Pravděpodobnost obsazení stavu $i$ dle Boltzmannova rozdělení $P_i = \frac{e^{-\frac{E_i}{k_B T}}}{\sum_{j=1}^N e^{-\frac{E_j}{k_B T}}}$
Střední hodnota energie $\langle E \rangle = \frac{\sum_{i=1}^N E_i \cdot e^{-\frac{E_i}{k_B T}}}{\sum_{j=1}^N e^{-\frac{E_j}{k_B T}}}$	

## Aproximace aktivit

čistá látka i v pevném skupenství:	$a_i \approx 1$
čistá látka i v kapalném skupenství:	$a_i \approx 1$
látka i v plynném skupenství:	$a_i \approx \frac{p_i}{p^\circ}$ , kde $p^\circ = 1 \text{ bar} = 100\,000 \text{ Pa}$
látka i v roztoku:	$a_i \approx \frac{[i]}{c^\circ}$ , kde $[i]$ je koncentrace látky $i$ a $c^\circ = 1 \text{ mol dm}^3$



## Vybrané konstanty a převodní vztahy

Avogadrova konstanta $N_A = 6,022 \cdot 10^{23} \text{ mol}^{-1}$	Boltzmannova konstanta $k_B = 1,3806 \cdot 10^{-23} \text{ J K}^{-1}$
Atomová hmotnostní konstanta $m_u = 1 \text{ amu} = 1,6605 \cdot 10^{-27} \text{ kg}$	Elektronvolt $1 \text{ eV} = 1,602 \cdot 10^{-19} \text{ J}$
Faradayova konstanta $F = 96485 \text{ C mol}^{-1}$	Planckova konstanta $h = 6,626 \cdot 10^{-34} \text{ J s}$
Rychlost světla ve vakuu $c = 299\,792\,458 \text{ m s}^{-1}$	Molární plynová konstanta $R = 8,314 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$
Termodynamická teplota $0 \text{ }^\circ\text{C} = 273,15 \text{ K}$	Atmosférický tlak $p_{\text{atm}} = 101\,325 \text{ Pa} = 1 \text{ atm} = 760 \text{ Torr}$
Standardní tlak $p^\circ = 100\,000 \text{ Pa} = 1 \text{ bar}$	Standardní teplota $T^\circ = 298,15 \text{ K}$
Standardní koncentrace $c^\circ = 1 \text{ mol dm}^{-3}$	

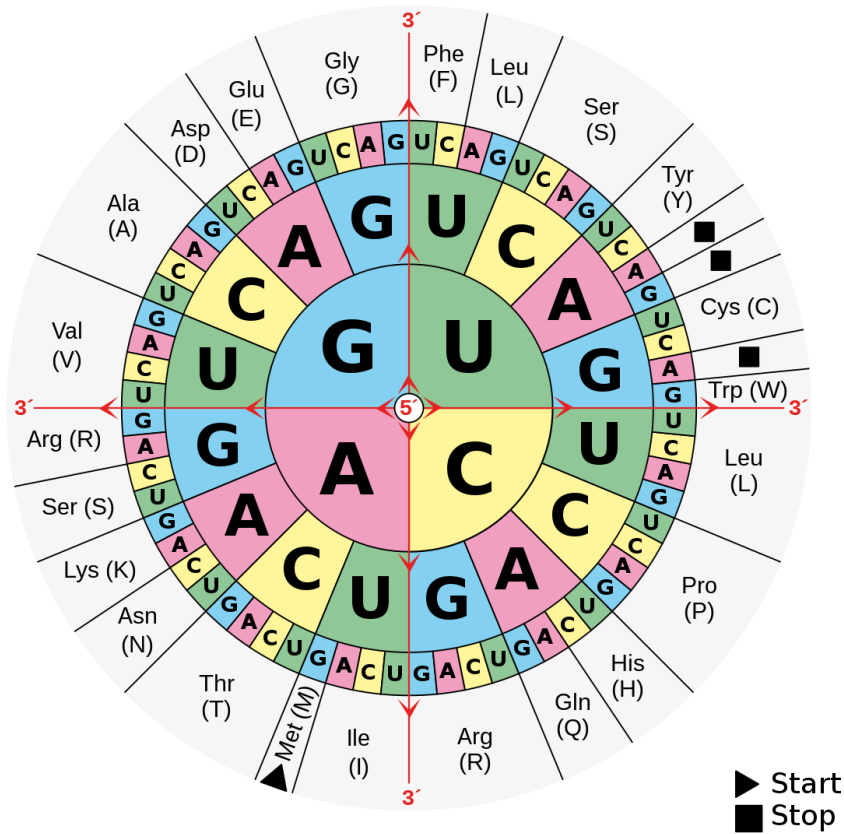
Tabulka  $pK_a$  látek relevantních pro tento ročník ChO

Vodík, kterého se hodnota  $pK_a$  týká, je v molekule označen červeně a tučně.

Látka	$pK_a$	Látka	$pK_a$	Látka	$pK_a$
	19,3		14,0		10,8
	12,9		15,5		5,2
	24		15,9		7,1
	9,1		4,8		36
	~50		10,3		37
	45–53		3,2		30
	35				



### Genetický kód





## KOLEKTIV AUTORŮ A RECENZENTŮ

### ANORGANICKÁ CHEMIE

<b>Autor</b>	<b>Mgr. Zdeněk Moravec, Ph.D.</b> Ústav chemie, PŘF MUNI
<b>Odborná recenze</b>	<b>doc. RNDr. Václav Slovák, Ph.D.</b> Katedra chemie, PŘF OU
<b>Pedagogická recenze</b>	<b>Ing. Bc. Lukáš Tomaník, Ph.D.</b> Department of Molecular Physics, FHI, Berlin, Germany Ústav fyzikální chemie, VŠCHT Praha

### FYZIKÁLNÍ CHEMIE

<b>Autoři</b>	<b>Miroslava Novoveská, MSci</b> Department of Chemistry, UCL
	<b>Richard Veselý, BA</b> Výlety za vědou
<b>Odborná recenze</b>	<b>Adam Přáda, Ph.D.</b> ISTA
	<b>Ing. Martin Balouch, Ph.D.</b> Zentiva, k. s. Ústav chemického inženýrství, VŠCHT Praha
<b>Pedagogická recenze</b>	<b>Ing. Bc. Lukáš Tomaník, Ph.D.</b> Department of Molecular Physics, FHI, Berlin, Germany Ústav fyzikální chemie, VŠCHT Praha

### ORGANICKÁ CHEMIE

<b>Autor</b>	<b>Ing. Ondřej Daněk</b> ÚOCHB, Praha
<b>Odborná recenze</b>	<b>Ing. Petra Ménová, Ph.D.</b> Ústav organické chemie a Ústav učitelství a humanitních věd, VŠCHT Praha
<b>Pedagogická recenze</b>	<b>Ing. Bc. Lukáš Tomaník, Ph.D.</b> Department of Molecular Physics, FHI, Berlin, Germany Ústav fyzikální chemie, VŠCHT Praha

### BIOCHEMIE

<b>Autor</b>	<b>Bc. Jakub Schimmer</b> Ústav biotechnologie, VŠCHT Praha
	<b>Bc. Daniela Nečasová</b> Ústav biotechnologie, VŠCHT Praha
<b>Odborná recenze</b>	<b>Jan Vavříň</b> University of Cambridge
	<b>Ing. Petra Ménová, Ph.D.</b> Ústav organické chemie a Ústav učitelství a humanitních věd, VŠCHT Praha
<b>Pedagogická recenze</b>	<b>Ing. Bc. Lukáš Tomaník, Ph.D.</b> Department of Molecular Physics, FHI, Berlin, Germany Ústav fyzikální chemie, VŠCHT Praha





Pokud jsou tyto krystaly vhodně upraveny, mohou sloužit jako zdroj signálu o velice přesné a stabilní frekvenci, např. pro hodinářské aplikace, procesory apod.

- 3) **V hodinkách, ale i jiných aplikacích jsou tyto piezoelektrické krystaly naladěny na frekvenci 32 768 Hz. Proč se využívá zrovna tato hodnota frekvence?**

Vysvětlení:
<b>body:</b>

Oxid křemičitý je i důležitou komponentou pro přípravu suroviny v metalurgickém průmyslu. Zahříváním s koksem a železným odpadem získáme pevnou látku, která se označuje jako ferrosilicium.

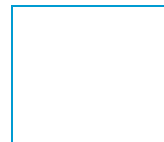
- 4) **Napište rovnici děje. K čemu se ferrosilicium v ocelářství využívá?**

Rovnice:
Využití:
<b>body:</b>

Když ferrosilicium vystavíme působení žlutozeleného plynu, získáme směs látek. Tyto látky je možné využít k přípravě skleněných vláken.

- 5) **Identifikujte žlutozelený plyn a produkt(y) této reakce, které obsahují křemík a produkt(y), které obsahují železo.**

Žlutozelený plyn:
Produkt(y) obsahující křemík:
Produkt(y) obsahující železo:
<b>body:</b>

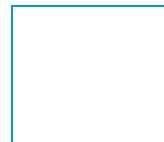


Ferrosilicium využívala i armáda jako bezpečný, mobilní zdroj vodíku, např. pro plnění balónů. Stačilo provést jednoduchou reakci s louhem.

**6) Napište rovnici této reakce. Proč se k tomuto účelu využívalo zrovna ferrosilicium?**

<p>Rovnice:</p>  <p>Zdůvodnění využití ferrosilicia:</p>	<p><b>body:</b></p>
--	---------------------



**Úloha 2 Sol-gelová syntéza****40 bodů**

Jak jsme si už ukázali dříve, při sol-gelových reakcích nedochází k úplnému odstranění organických skupin z prekurzorů. Podíl zreagovaných organických skupin lze vyjádřit pomocí *stupně kondenzace* (DC, degree of condensation).

$$DC = \frac{n_{\text{zreagované}}}{n_{\text{teoretické}}}$$

Jednou z možností, jak DC stanovit, je gravimetrie, tzn. velmi přesné vážení během celého procesu.

Gravimetrické provedení reakce a výpočet DC si můžeme demonstrovat na reakci triacetoxysilanu ( $\text{HSi}(\text{OAc})_3$ ) s 1,3,5-trihydroxybenzenem (THB). Reakce byla prováděna v baňce o hmotnosti 205,3582 g, do ní bylo naváženo 3,2954 g triacetoxysilanu ( $M = 206,23 \text{ g mol}^{-1}$ ) a 2,0152 g THB ( $M = 126,11 \text{ g mol}^{-1}$ ). Po dokončení reakce byly vakuově odpařeny veškeré těkavé látky a hmotnost baňky se získaným xerogelem byla 208,0852 g.

- 1) **Nakreslete schéma reakce včetně stechiometrie; reaktanty i vedlejší produkt zakreslete strukturně. U hlavního produktu zakreslete základní strukturní opakující se motiv. Pro jednoduchost předpokládejte, že vazba Si-H do reakce nevstupuje. (V případě, že tuto úlohu nevyřešíte, můžete za bodovou ztrátu odpovídající této úloze požádat o reakční schéma.)**

Schéma:

**body:**

2) Vypočítejte stupeň kondenzace provedené reakce.

Výpočty a úvahy:

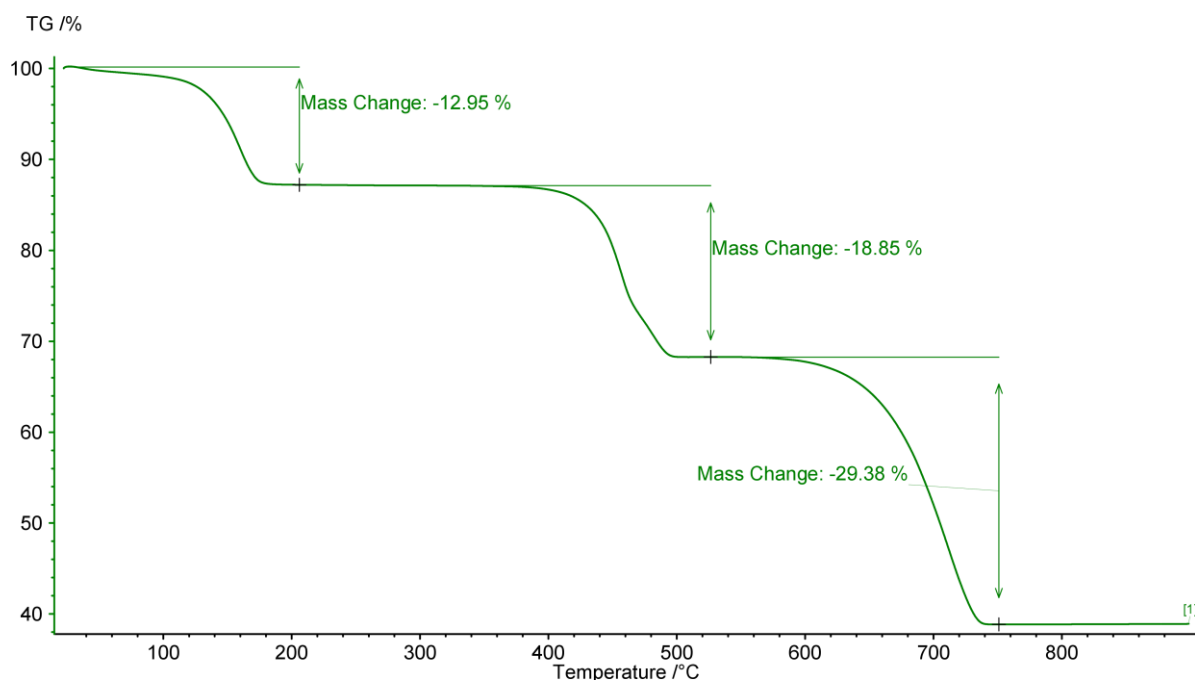
Stupeň kondenzace:

**body:**



Pro charakterizaci produktů sol-gelových syntéz je neocenitelným pomocníkem termická analýza. Termogravimetrie (TG) je metoda, která sleduje hmotnostní změny produktu během teplotního programu. Diferenční skenovací analýza (DSC) je metoda, která zaznamenává tepelné efekty ve vzorku během definovaného teplotního programu.

TG křivka nám přináší informace o tom, jaká část vzorku se při dané teplotě uvolňuje z kelímku ve formě plynu. Na obrázku je záznam TG analýzy monohydrátu šťavelanu vápenatého.



3) Napište rovnice odpovídající jednotlivým schodům na TG křivce.

Chemické rovnice:

body:



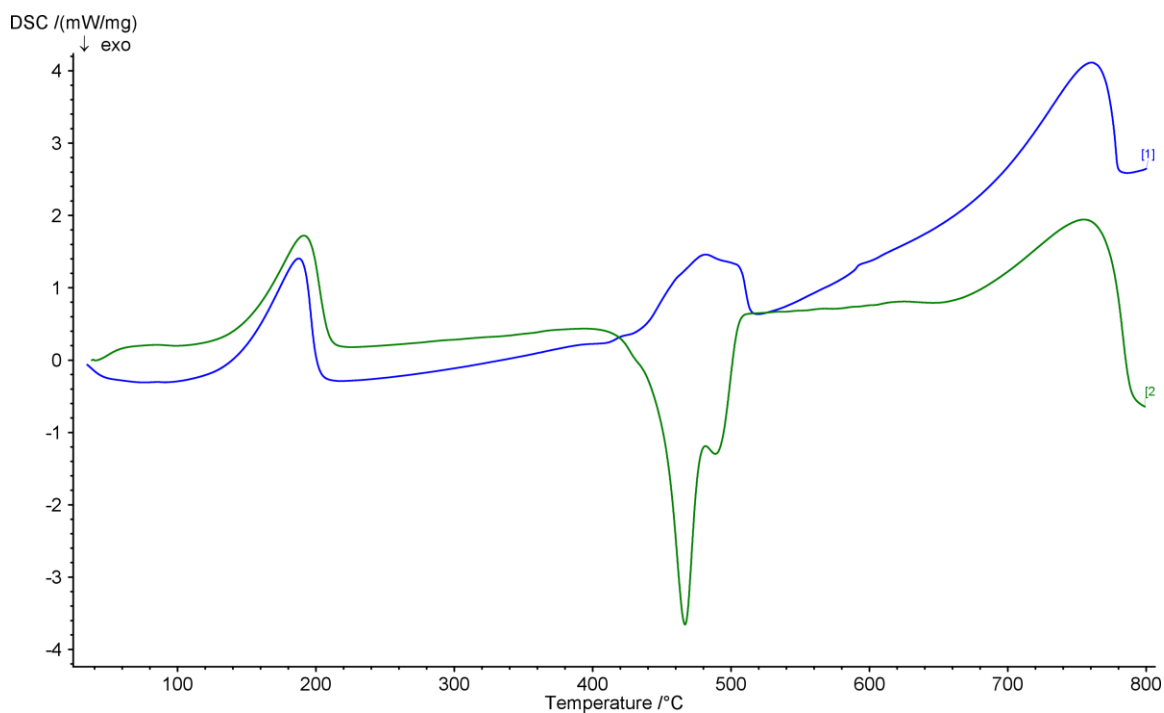
- 4) Pomocí hmotnostních úbytků potvrďte správnost navržených rovnic.  
Byl použitý štavelan čistý (min. 98 %)?

Výpočty a úvahy:

Použitý štavelan **byl** / **nebyl** čistý. (Podtrhněte správnou odpověď.)

**body:**

Důležité informace samozřejmě najdeme i na DSC křivce. Zajímavé je srovnání DSC křivky rozkladu štavelanu vápenatého ve vzduchu a v dusíkové atmosféře. Na obrázku dole odpovídá zelená křivka analýze v atmosféře syntetického vzduchu ( $N_2:O_2$  80:20) a modrá v atmosféře dusíku. TG křivky jsou přitom prakticky shodné.





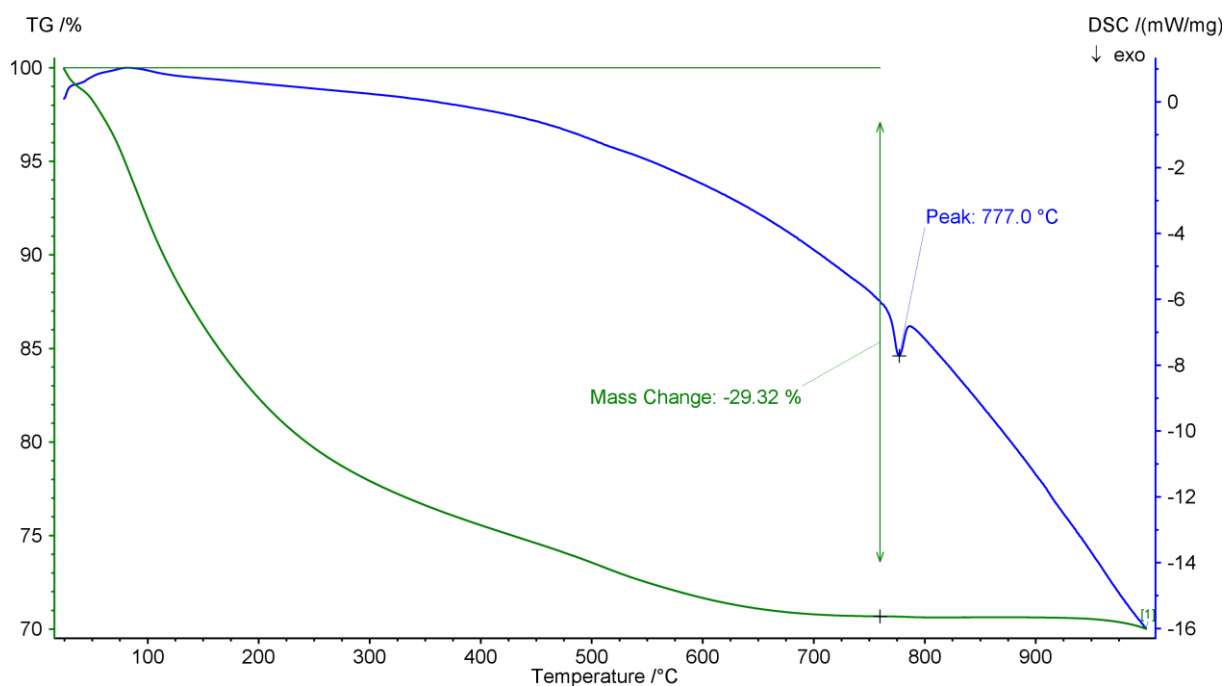
5) Vysvětlete rozdíl v druhém kroku (400-500 °C) rozkladu šťavelanu. Napište rovnici děje.

Vysvětlení:

Rovnice:

**body:**

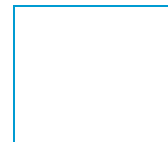
Na dalším obrázku je záznam termické analýzy čerstvě připraveného xerogelu. Na TG křivce (zelená) vidíme poměrně velký, ale pozvolný hmotnostní úbytek do teploty cca 700 °C. To nám naznačuje, že v gelu zůstal ještě velký podíl nezreagovaných organických skupin. Na DSC křivce (modrá) vidíme pouze jeden výrazný pík.



6) Označte děje, kterým by mohl odpovídat tepelný efekt na DSC křivce při teplotě 777 °C?

a) Destilace  
 b) Krystalizace  
 c) Sublimace  
 d) Přechod mezi polymorfními modifikacemi  
 e) Oxidace materiálu

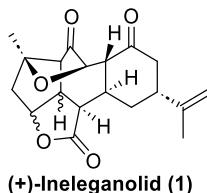
**body:**



## ORGANICKÁ CHEMIE

## 60 BODŮ

*Sinularia Inelegans* je druh měkkého korálu vyskytující se v mořích v okolí Tchaj-Wanu. V roce 1999 byl vybrán vědci z National Sun Yat-sen University Tchaj-Wan k bližšímu zkoumání poté, co byly prokázány cytotoxické účinky extraktu z tohoto korálu na řadu linií rakovinných buněk. Po náročné separaci a charakterizaci jednotlivých látek z tohoto extraktu byl jako jedna z účinných látek vykazujících cytotoxicitu identifikován ineleganolid (viz obrázek níže, pro účely úloh národního kola byla konfigurace některých center chiralitů ponechána neurčená, což je znázorněno vlnitou vazbou).



Množství látek izolovaných z přírodních zdrojů je ale často příliš malé na podrobnější testy biologické aktivity, a pro získání většího množství bývá nutné látku syntetizovat chemicky.

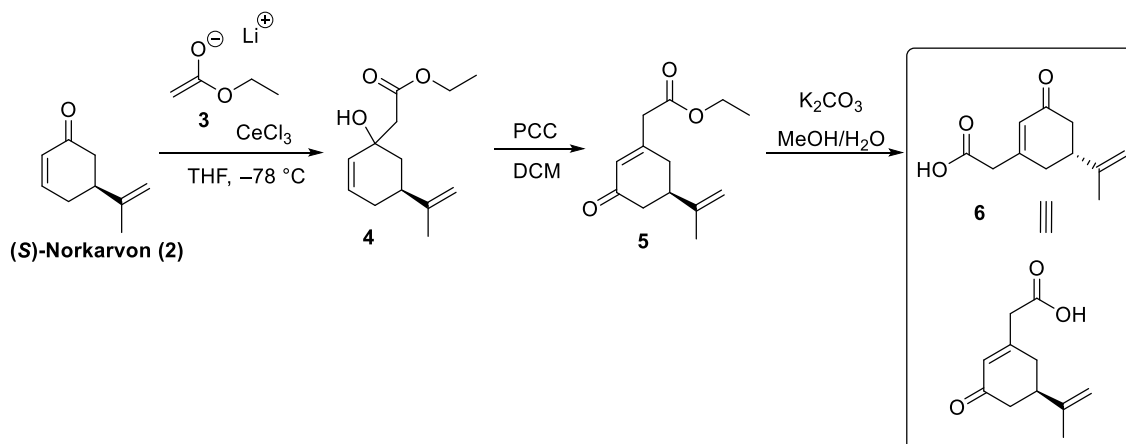
My se v úlohách národního kola podíváme na z hlediska chemie karbonylových sloučenin a z hlediska kontroly stereochemie zajímavou totální syntézu ineleganolidu publikovanou vědci z Kalifornského technologického institutu (Caltech) v roce 2023.

Syntéza začíná z dobře dostupných malých molekul – (*S*)-norkarvonu a (*R*)-linaloolu, které již obsahují centra chiralit, díky kterým potom další reakce probíhají diastereoselektivně.

### Úloha 1 Syntéza prvního stavebního bloku

### 19 bodů

Nejprve se podíváme na syntézu karboxylové kyseliny **6**, která vychází z (*S*)-norkarvonu (**2**). V prvním kroku reaguje (*S*)-norkarvon s lithným enolátem ethyl-acetátu (**3**) za přítomnosti chloridu ceritého a při chlazení na  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Vzniklý terciární alkohol **4** podléhá při takzvané Bablerově–Daubenově oxidaci pyridinium chlorchromátem (PCC) allylovému přesmyku, a vzniká tak keton **5**. Hydrolyzou esterové skupiny pak vzniká karboxylová kyselina **6**.



Pro provedení první reakce ve schématu autoři této totální syntézy nejprve vytvořili lithný enolát ethyl-acetátu, a k němu později přidali roztok (*S*)-norkarvonu. Zamyslete se ale ještě nad tím, v jakém pořadí je potřeba přidávat reaktanty při samotné přípravě lithného enolátu.

**1) Prováděli byste přípravu lithného enolátu ethyl-acetátu (3) tak, že byste:**

- a) do vychlazeného roztoku ethyl-acetátu v tetrahydrofuranu jako rozpouštědla přidávali po kapkách silnou bázi,  
**nebo**
- b) do vychlazeného roztoku silné báze v tetrahydrofuranu jako rozpouštědla přidávali po kapkách ethyl-acetát.

**Svou volbu zdůvodněte a napište mechanismus vedlejší reakce, která by mohla probíhat, pokud byste reaktanty přidávali v opačném pořadí.**

Zdůvodnění:

Mechanismus:

**body:**

**2) Aby se těmto vedlejším reakcím předešlo, je na kvantitativní deprotonaci ethyl-acetátu potřeba použít velmi silnou bázi, aby v reakční směsi nezbyl téměř žádný nedepronovaný ethyl-acetát (uvažujte že je potřeba snížit koncentraci nedepronovaného ethylacetátu aspoň o 10 řádů). Vyberte všechny dostatečně silné báze, které lze použít.**

- a)  $K_2CO_3$   
b) Pyridin  
c) LDA (lithium diisopropylamid)  
d) EtONa  
e) NaOH  
f) *t*-BuLi (*terc*-butyllithium)  
g) Triethylamin  
h) KHMDS (kalium hexamethyldisilazid)

**body:**





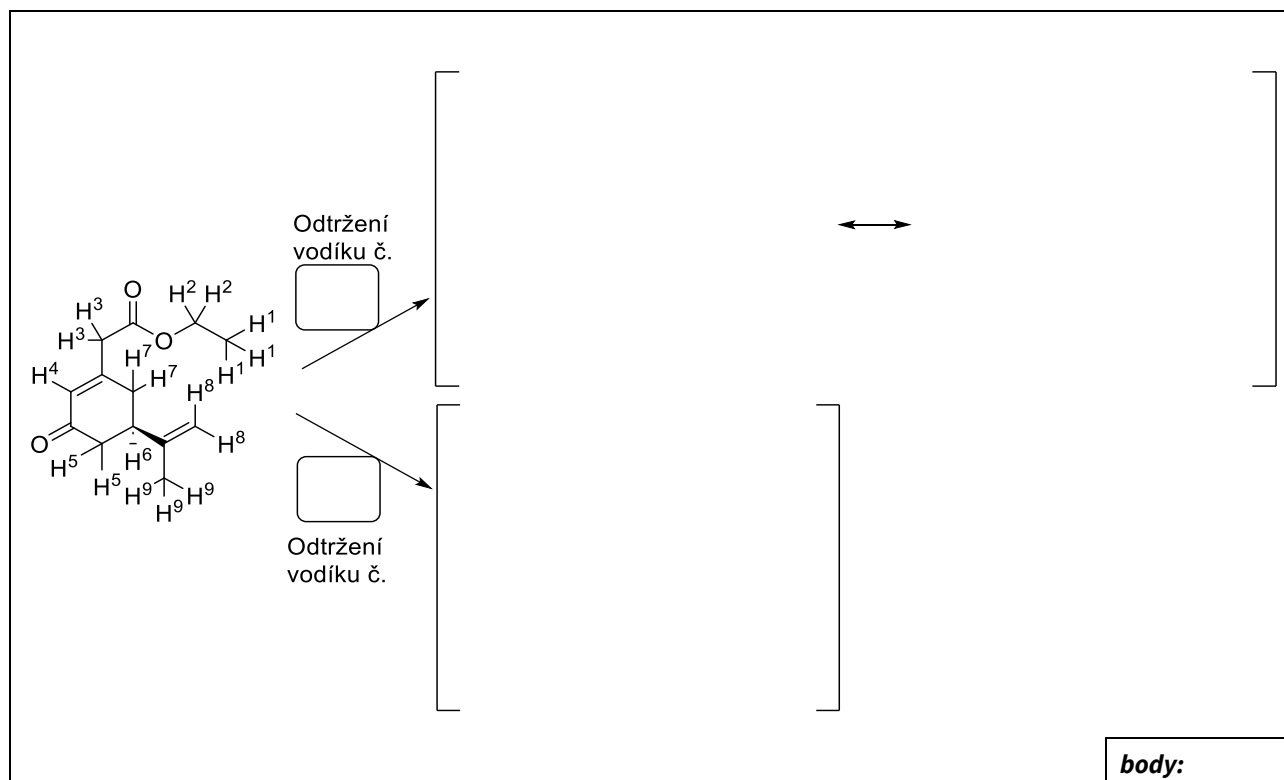


V posledním kroku je bazická hydrolyza esteru **5** prováděna v přítomnosti uhličitanu draselného, který je poměrně slabou bází.

- 5) Napište čísla vodíků ( $H^1$ – $H^9$ , viz obrázek níže) ve struktuře látky **5**, které by mohly být silnějšími bázemi odtrženy, a ke každému z nich nakreslete strukturu reaktivní látky, která deprotonací vzniká.

V jednom případě má vzniklý reaktivní intermediát dvě rezonanční formy, které vysvětlují nukleofilitu na dvou různých atomech uhlíku. Nakreslete obě tyto rezonanční struktury.

(Do těch už implicitní vodíky pro přehlednost nedokreslujte.)

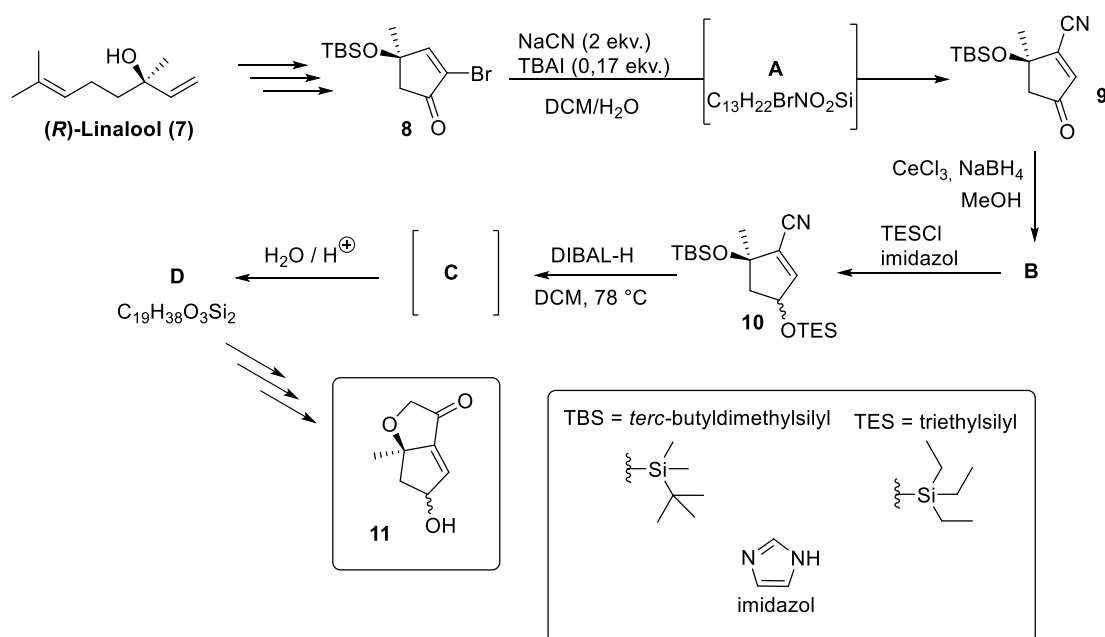




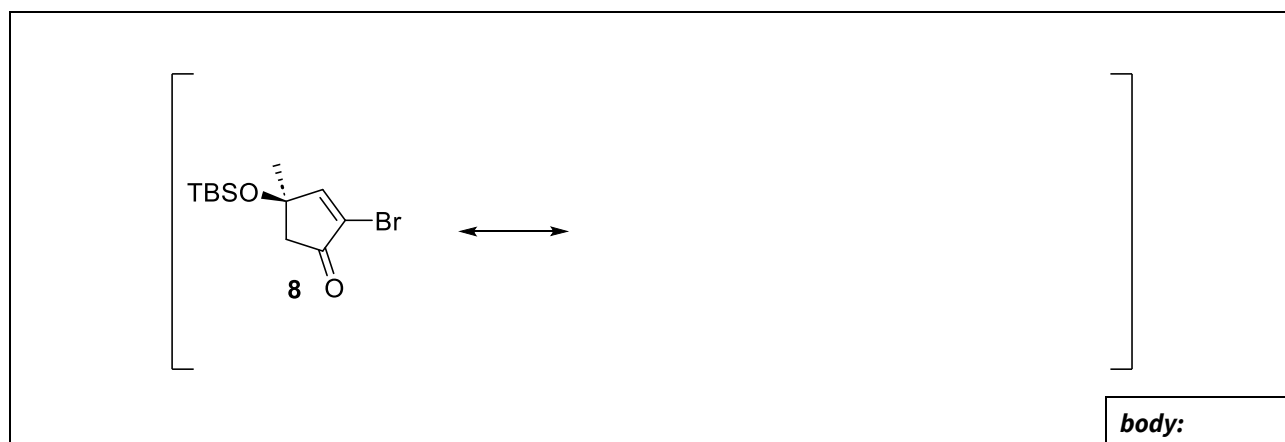
## Úloha 2 This is getting out of hand, now there are two of them...

19 bodů

Nyní se podíváme na syntézu druhého stavebního bloku, vycházející z (*R*)-linaloolu (**7**). Z toho byl nejprve sérií čtyř reakcí připraven meziprodukt **8**, který následně reaguje se dvěma ekvivalenty kyanidu sodného v přítomnosti tetrabutylamonium jodidu (TBAI), který zde funguje jako katalyzátor fázového přenosu kyanidových iontů z vodné do organické fáze (dichlormethanu, DCM), ve které je rozpuštěný reaktant **8**. Reakcí kyanidu s látkou **8** nejdříve vzniká intermediát **A**, který ale v přítomnosti přebytku kyanidových iontů podléhá další reakci, kterou vzniká produkt **9**. V následující reakci je ketoskupina meziproductu **9** podrobena působení tetrahydridoboritanu sodného v přítomnosti chloridu ceritého, čímž vzniká látka **B**. Ta je následně převedena triethylsilylchloridem (TESCl) v přítomnosti imidazolu jako báze na látku **10**, která je poté podrobena reakci s diisobutylaluminium hydridem (DIBAL-H) v dichlormethanu při teplotě  $-78^{\circ}\text{C}$ . Vzniklý adukt **C** se následně rozkládá na produkt **D** přidáním vody a okyselením vzniklé směsi. Z produktu **D** pak byl sérií několika dalších reakcí připraven bicycklý enon **11**.



- 1) Nakreslete rezonanční strukturu meziproductu **8**, která vysvětluje reaktivitu této látky s nukleofily, kterou můžeme pozorovat v reakci s kyanidem sodným.



**2) Nakreslete strukturu intermediátu A.**

<b>body:</b>

**3) Jaký toxický plyn se bude uvolňovat z reakční směsi při transformaci z intermediátu A na látku 9 při podmínkách popsaných nad šipkou?\* Napište jeho sumární vzorec.**

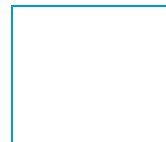
\* jelikož je látka **A** pouze reakčním intermediátem, který ihned podléhá další reakci (zde je zvlášť napsán jen pro účely úlohy), jsou reakční podmínky stejné, jako je uvedeno nad šipkou od látky **8** k látce **A**.

Sumární vzorec toxického plynu:
<b>body:</b>

**4) Nakreslete strukturu látky B včetně správné stereochemie a stereochemii slovně zdůvodněte.**

Struktura látky <b>B</b> :
Zdůvodnění:
<b>body:</b>



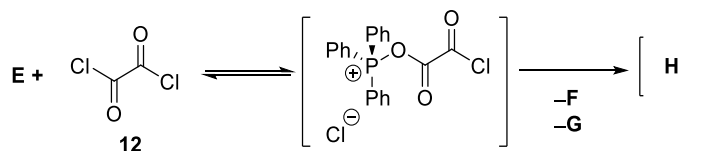


### Úloha 3 Blížíme se do finále

22 bodů

Poté, co máme připraveny oba stavební bloky, se můžeme podívat na jejich spojení a zajímavé intramolekulární reakce, kterých následně autoři využili pro vytvoření polycyklického skeletu (+)-ineleganolidu.

Nejprve je připraveno reakcí látky **E** a oxalylchloridu (**12**) činidlo **H**. Mechanismus této reakce je naznačen níže. Při reakci se kromě produktu **H** uvolňují také dva plynné vedlejší produkty **F** a **G**.



1) Nakreslete strukturu látky **E**.

body:

2) Zapište sumární vzorce vedlejších produktů **F** a **G** (je jedno v jakém pořadí).

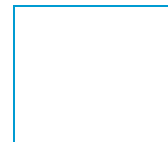
Sumární vzorec látky **F**:

Sumární vzorec látky **G**:

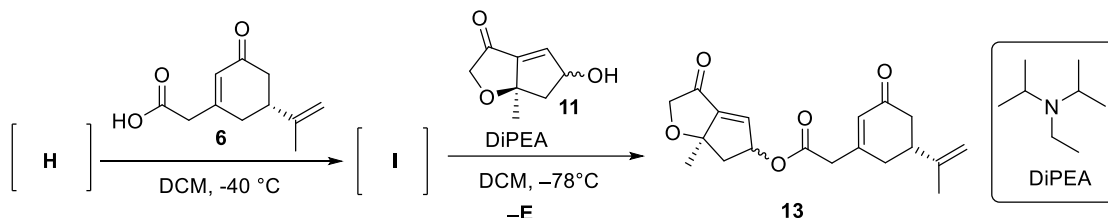
body:

3) Nakreslete strukturu činidla **H**.

body:



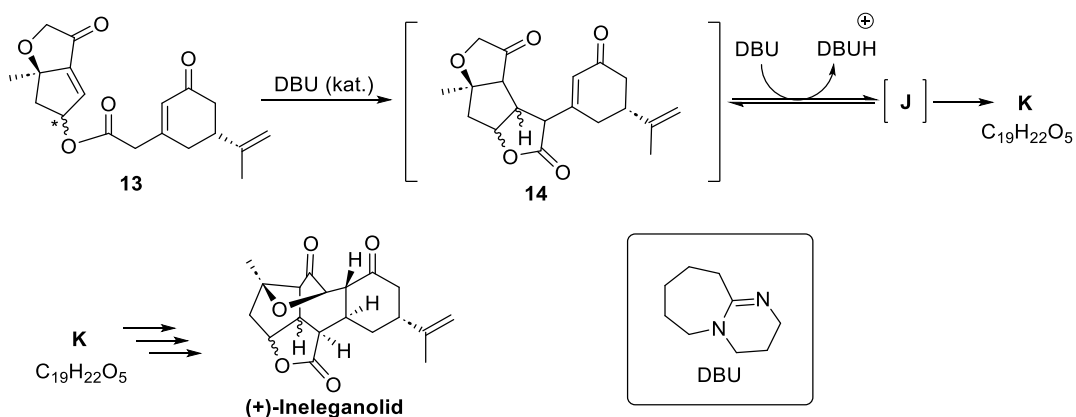
K *in-situ* generovanému činidlu **H** je následně přidána karboxylová kyselina **6** a vzniká aktivovaný intermediát **I**, který je natolik reaktivní, že následný coupling s alkoholem **11** v přítomnosti *N,N*-diisopropylethylaminu (zkratka DiPEA – báze) probíhá i při  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ , a za pouhých 10 minut je reakce hotová a vzniká ester **13**. Při této reakci se uvolňuje zpět látka **E**. Touto neobvyklou metodou esterifikace se autoři vyhnuli problémům s rozkladem látky **11** při delším vystavení bazickým podmínkám.



4) Nakreslete strukturu aktivované látky **I** (stačí bez stereochemie).



Vzniklý ester **13** je následně zahříván s DBU (1,8-diazabicyklo[5.4.0]undec-7-en, silná báze). Nejdříve vzniká intermediát **14** se třemi kondenzovanými cykly. V přítomnosti báze podléhá tento meziprodukt druhé deprotonaci, a vzniká tak intermediát **J**. Ten následně za vzniku nového cyklu poskytuje jako finální produkt této bazicky katalyzované reakce stabilní alkohol **K** se sumárním vzorcem  $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{O}_5$ . Z tohoto alkoholu je v několika dalších krocích připraven finální produkt, (+)-ineleganolid.



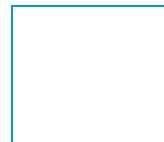




- 7) **Nakreslete strukturu alkoholu K včetně správné stereochemie nově vzniklého centra chiralit**. Pokud si nejste jistí konfiguracemi dříve vzniklých center chiralit v látce **14**, jejich konfiguraci si zvolte a při vymýšlení konfigurace nově vzniklého centra chiralit vycházejte z nich.

	<b>body:</b>
--	--------------



**FYZIKÁLNÍ CHEMIE****60 BODŮ****Úloha 1 Metanolová****20 bodů**

V této úloze se podíváme na průmyslovou výrobu metanolu.

Data, která se mohou hodit (hodnoty platí pro teplotu 298,15 K):

- $\Delta_r H^\circ = -90,0 \text{ kJ mol}^{-1}$
- $\Delta_r S^\circ = -220 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$

1) Při jaké teplotě bude platit  $K_p = 2 \cdot 10^{-2}$ ? Předpokládejte, že  $\Delta_r H^\circ$  a  $\Delta_r S^\circ$  nezávisí na teplotě.

$T = \dots\dots\dots$

**body:**



- 2) Do nádoby s konstantním objemem 50 l jsou přivedeny 3 moly oxidu uhelnatého a 5 molů vodíku, které spolu reagují za vzniku metanolu. Teplota nádoby je udržována na 400 K. Za předpokladu, že se v nádobě ustanoví rovnováha, spočítejte zlomek vodíku, který zreagoval,  $y$ . Rovnovážná konstanta této reakce při teplotě 400 K je:  $K_p = 1,8246$ . Uvažujte, že se všechny plyny chovají ideálně. Doporučujeme využít funkce řešení rovnic v kalkulačce.

Výpočet:

(pokračuje na další straně)



y = .....

**body:**

## Úloha 2 Zbrklý Pepíček

10 bodů

Jednoho dne se Pepíček nadšeně pustil do počítání „tendencí probíhat“ následujících reakcí stříbra:

reakce 1:	$\text{Ag}^+(\text{aq}) + \text{e}^- \rightarrow \text{Ag}(\text{s})$
reakce 2:	$\text{AgCl}(\text{s}) + \text{e}^- \rightarrow \text{Ag}(\text{s}) + \text{Cl}^-(\text{aq})$
reakce 3:	$\text{Ag}^+(\text{aq}) + 2\text{S}_2\text{O}_3^{2-}(\text{aq}) \rightarrow [\text{Ag}(\text{S}_2\text{O}_3)_2]^{3-}(\text{aq})$
reakce 4:	$\text{Ag}^+(\text{aq}) + \text{Cl}^-(\text{aq}) \rightarrow \text{AgCl}(\text{s})$
reakce 5:	$\text{Ag}(\text{s}) + 2\text{S}_2\text{O}_3^{2-}(\text{aq}) \rightarrow [\text{Ag}(\text{S}_2\text{O}_3)_2]^{3-}(\text{aq}) + \text{e}^-$
reakce 6:	$\text{AgCl}(\text{s}) + 2\text{S}_2\text{O}_3^{2-}(\text{aq}) \rightarrow [\text{Ag}(\text{S}_2\text{O}_3)_2]^{3-}(\text{aq}) + \text{Cl}^-(\text{aq})$

Pro každou z těchto reakcí si spočítal buď rovnovážnou konstantu, standardní redoxní potenciál nebo standardní reakční Gibbsovu energii, vše při teplotě 298,15 K – sloupeček „Pepíčkův výsledek“ v následující tabulce.

**Tabulka 1:** Pepíčkovy výsledky; odpovídající reakční Gibbsovy energie; odpovídající reakce

	Pepíčkův výsledek	$\Delta_r G_i^\circ / \text{kJ mol}^{-1}$ (zaokrouhлено na 2 desetinná místa)	Číslo reakce
<b>A</b>	$\Delta_r G_A^\circ = -55,96 \text{ kJ mol}^{-1}$	-55,96	
<b>B</b>	$K_B = 4550$	-20,88	
<b>C</b>	$K_C = ???$	-76,84	
<b>D</b>	$E_D^\circ = 0,8000 \text{ V}$	-77,19	<b>1</b>
<b>E</b>	$E_E^\circ = -3,573 \cdot 10^{-3} \text{ V}$	0,35	
<b>F</b>	$E_F^\circ = ???$	-21,23	

Bohužel byl zbrklý a zapomněl si poznamenat, kterým reakcím 1–6 jeho hodnoty odpovídají. Jediné, co si pamatoval bylo, že **reakci 1** odpovídá hodnota **D**. Vaším úkolem je mu pomoci přiřadit jeho výsledky k reakcím 2–6.

1) Spočítejte rovnovážnou konstantu reakce C,  $K_C$ , a redoxní potenciál reakce F,  $E_F$ .

Výpočet:

$K_C = \dots\dots\dots$

$E_F = \dots\dots\dots$

**body:**

- 2) **Přiřadte jednotlivé výsledky A–C, E a F k reakcím 2–6 a Vaše odpovědi zanepte do tabulky 1. Body jsou zvlášť uděleny za správné odpovědi a za postup.**

Postup:

**body:**

**Úloha 3 O tepelné kapacitě****30 bodů**

V této úloze se stejně jako v předchozích úlohách podíváme na rotační a vibrační energetické hladiny molekul. Nejprve se ale pojďme podívat, jak tyto energetické hladiny ovlivňují jednu z proslulých termodynamických veličin – tepelnou kapacitu.

Částice plynu s  $N$  atomy má  $3N$  stupňů volnosti (vnitřních proměnných), kdy vždy 3 stupně patří translaci (posuvnému pohybu celého těžiště molekuly v prostoru), rotacím patří 2 stupně (pro lineární molekuly) nebo 3 stupně (pro nelineární molekuly) a ostatní stupně volnosti patří vibracím.

**1) Rozhodněte, kolik translačních, rotačních a vibračních stupňů volnosti budou mít následující částice: Ar, CO, CO<sub>2</sub>, NO<sub>2</sub>, NH<sub>3</sub>, C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>. Svá rozhodnutí zdůvodněte.**

Ar:

CO:

CO<sub>2</sub>:NO<sub>2</sub>:NH<sub>3</sub>:C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>:**body:**

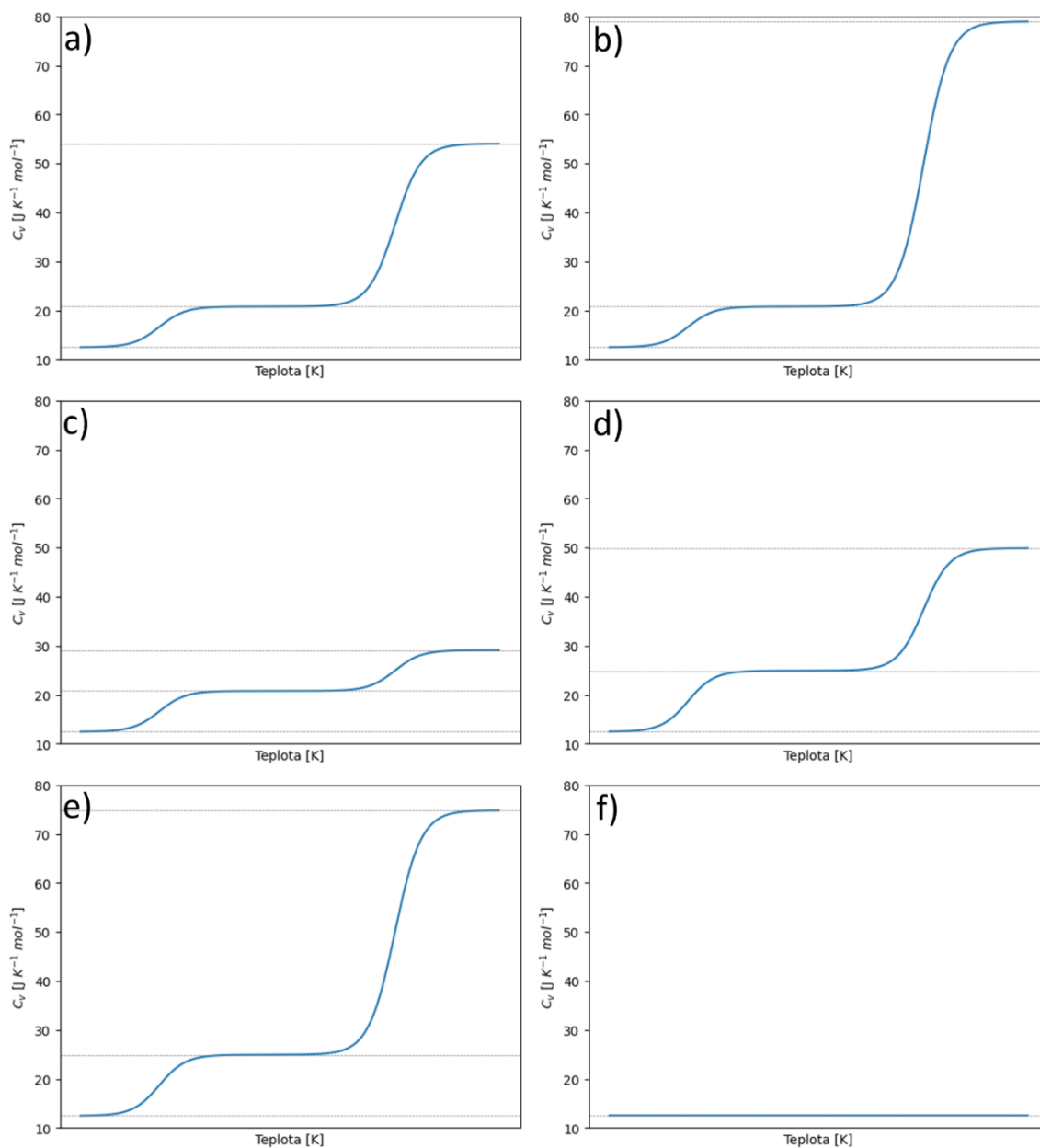


Molární tepelná kapacita za konstantního objemu ( $C_v$ ) se u ideálních plynů dá odhadnout z ekvipartičního teorému:

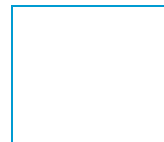
- každý translační stupeň volnosti, kterému odpovídá kinetická energie  $\frac{1}{2}mv^2$ , přispěje k hodnotě  $C_v$  členem  $\frac{1}{2}R$ ;
- každý rotační stupeň volnosti, kterému odpovídá kinetická energie  $\frac{1}{2}J\omega^2$ , přispěje  $\frac{1}{2}R$ ;
- každý vibrační stupeň volnosti, kterému odpovídá kinetická energie  $\frac{1}{2}\mu v^2$  a potenciální energie  $\frac{1}{2}kx^2$ , přispěje  $R$ .

V realitě je situace trochu komplikovanější, neboť rozdíly energetických hladin rotačních a vibračních stupňů volnosti jsou nezanedbatelné v porovnání s tepelnou energií poskytovanou okolím, a tak přispívají k tepelné kapacitě až za určitých teplot.

Kromě toho tento odhad také komplikuje fakt, že přechody odpovídající různým rotacím či vibracím mají různé rozdíly energií (a tím pádem mohou začít přispívat postupně s rostoucí energií a ne všechny najednou) – to ale v této úloze uvažovat nebudeme.



**Obrázek 1:** Grafy závislosti tepelné kapacity na teplotě



2) Na základě výše uvedených informací přiřadte grafy 1a-f k následujícím plynům: Ar, CO, CO<sub>2</sub>, NO<sub>2</sub>, NH<sub>3</sub>, C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>. Svá rozhodnutí podpořte výpočty C<sub>v</sub>.

Ar:	CO:
CO <sub>2</sub> :	NO <sub>2</sub> :
NH <sub>3</sub> :	C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> :
<b>body:</b>	





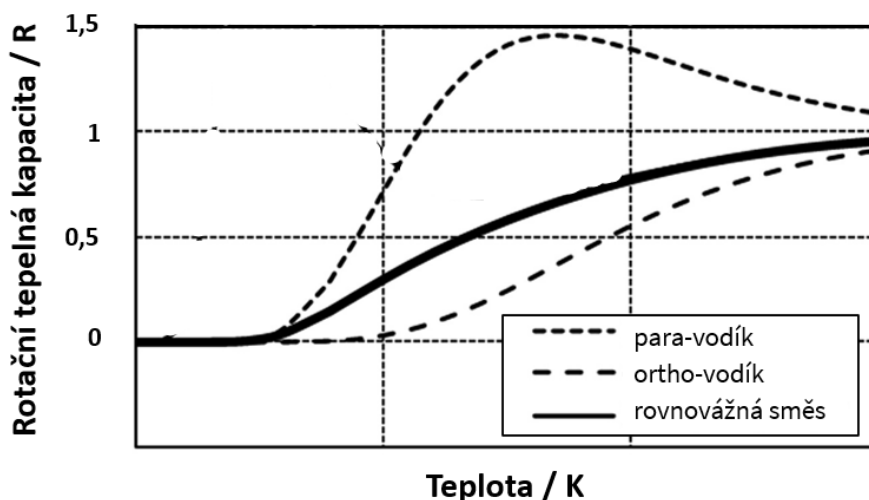
Rotační hladiny molekuly vodíku mají energii  $E_i = B \cdot J \cdot (J + 1)$  a degeneraci  $2J + 1$ , kde  $B$  je rotační konstanta a  $J$  je přirozené číslo,  $J = 0, 1, 2, 3, \dots$ . Bohužel nic není tak jednoduché, jak to na první pohled vypadá.

Ve skutečnosti existují dva typy molekul vodíku – ortho a para (kvůli jadernému spinu, ale to teď není důležité). Když se podíváme na jejich rotační hladiny, zjistíme, že:

- **para-vodík** má rotační hladiny pouze se **sudými hodnotami  $J$  a  $J = 0$**
- **ortho-vodík** má rotační hladiny pouze s **lichými hodnotami  $J$**
- degenerace každé rotační hladiny **ortho-vodíku** se navíc musí **vynásobit třemi** (kvůli možným konfiguracím jaderného spinu)

Uvažujte, že rovnovážné složení směsi ortho- a para-vodíku je závislé pouze na energiích a degeneracích rotačních hladin.

Na grafu níže máte závislost rotační tepelné kapacity na teplotě u para-vodíku, ortho-vodíku a rovnovážné směsi jich obou za dané teploty.



**Obrázek 2:** Graf závislosti rotační tepelné kapacity na teplotě u para-vodíku, ortho-vodíku a jejich rovnovážné směsi.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Přizpůsobeno z: Lasala S., Privat R., Arpentinier P., Jaubert J.-N. *Fluid Phase Equilib* **504** (2020), DOI: [10.1016/j.fluid.2019.112325](https://doi.org/10.1016/j.fluid.2019.112325)



- 3) Vycházejíce z grafu výše, vypočítejte, jaké bude složení rovnovážné směsi ortho- a para-vodíku při teplotě, kdy je rotační tepelná kapacita této směsi  $0,5 R$ .

Výpočet:

Odpořed: .....

**body:**

- 4) Při jaké teplotě bude složení rovnovážné směsi ortho- a para-vodíku 1:1? Rotační konstanta molekuly vodíku,  $B$ , je  $85,3 K$ . Uvažujte, že je při této teplotě dostačující uvažovat pouze hladiny s  $J \leq 3$ .

Výpočet:

*(pokračuje na další straně)*

Odpořed: .....

**body:**

5) Jaké bude složení rovnovážné směsi ortho- a para-vodíku za velmi nízkých teplot,  $T \rightarrow 0$  K? Zdůvodněte. (Zdůvodnění může být i výpočet.)

Složení:

Zdůvodnění:

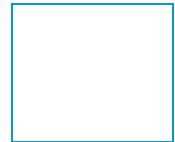
**body:**

6) Jaké bude složení rovnovážné směsi ortho- a para-vodíku za vysokých teplot,  $T \rightarrow \infty$  K? Zdůvodněte. (Zdůvodnění může být i výpočet.)

Složení:

Zdůvodnění:

**body:**



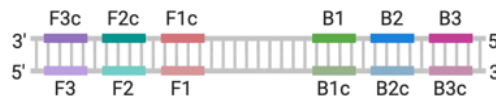
# BIOCHEMIE

60 BODŮ

## Úloha 1 PCR trochu jinak

27 bodů

Kromě obvyklého nastavení PCR, kdy v každém cyklu opakujeme kroky denaturace, nasedání primerů a jejich extenze, můžeme tuto reakci provádět i v jiném nastavení. Pro tuto metodu nazývanou LAMP navrhujeme více sad primerů proti šesti sekvencím na templátovém vlákně. Tyto sekvence označujeme jako F1–3, resp. B1–3 a k nim komplementární sekvence na druhém vlákně označujeme písmenem c (**Obrázek 3**). Dalším rozdílem je využití tzv. strand displacement DNA polymerasy, která během extenze primeru rozplétá stávající dvoušroubovici DNA, čímž od sebe oddělí původní vlákna.



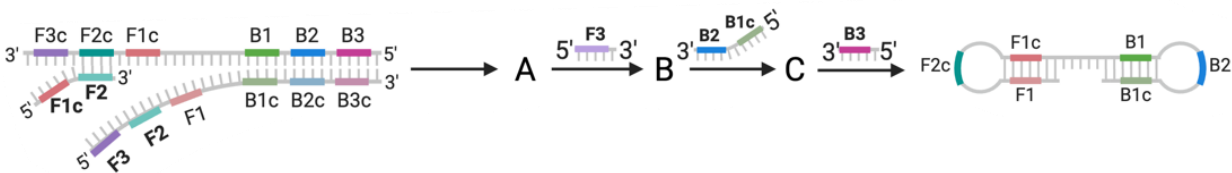
**Obrázek 3:** Templátová DNA pro LAMP PCR.

1) V čem je strand displacement aktivita neobvyklá? Jinými slovy, co udělá většina DNA polymeras (např. Taq polymerasa využívaná při běžné PCR), když jí při extenzi primeru stojí v cestě vlákno DNA?

Odpověď:

body:

Reakce je zahájena vmezeřením F2-F1c primeru mezi vlákna templátové DNA. Jeho extenzí získáme dvouvláknovou DNA **A**, jejíž nové vlákno obsahuje doménu z primeru. Pomocí extenze F3 primeru získáme zpět původní templátovou DNA a samostatné nové vlákno **B**. Na toto vlákno následně nasedá B2-B1c primer, jehož extenzí získáme dvouvláknovou DNA **C**. Do té se vmezeří B3 primer, jehož extenzí uvolníme jedno vlákno DNA se dvěma novými doménami. V rámci tohoto vlákna jsou k sobě dva páry domén komplementární. Vzájemnou interakcí mezi takovými doménami vznikají vlásenky, díky nimž se této struktuře říká činka (dumbbell) (**Obrázek 4**).



**Obrázek 4:** Schéma vedoucí od původní templátové DNA k struktuře činky.

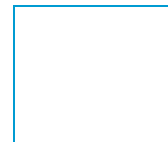
2) Nakreslete struktury dvouvláknových DNA **A** a **C** a jednovláknové DNA **B** včetně vyznačených domén.

Dvouvláknová **A**:

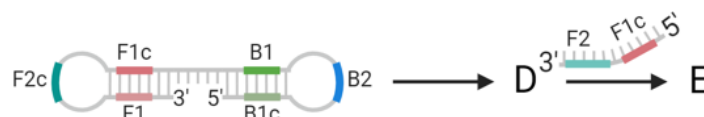
Jednovláknová **B**:

Dvouvláknová **C**:

body:



Činka je pro LAMP PCR důležitým meziproduktem, jelikož z ní vychází amplifikace templátové DNA. DNA polymerasa nejprve prodlužuje konec činky, protože konec vlásenky sám o sobě působí jako primer. Výsledkem je dlouhá vlásenková struktura **D**. Na smyčce vlásenky následně nasedá F2-F1c primer, jehož extenzí vzniká meziprodukt **E** obsahující dvouvláknovou DNA i jednovláknový segment s vlásenkou (**Obrázek 5**).



**Obrázek 5:** První kroky amplifikace struktury činky.

- 3) **Nakreslete struktury meziproduktů D a E včetně vyznačených domén. Dejte pozor na všechny interakce komplementárních domén, aby vám neutekly žádné smyčky. Pamatujte na strand displacement aktivitu DNA polymerasy.**

Meziprodukt <b>D</b> :	Meziprodukt <b>E</b> :
<b>body:</b>	

Tato reakce následně pokračuje vznikem stále větších a složitějších produktů s velkým množstvím smyček, kdy jako vedlejší produkty vznikají již zmíněné činky, což vede k exponenciální amplifikaci.

- 4) **Porovnejte strukturu produktů běžné PCR a LAMP a na základě toho porovnejte možnosti využití obou reakcí.**

Odpověď:	
<b>body:</b>	

Díky využití strand displacement DNA polymerasy můžeme zjednodušit řízení celé reakce. Díky tomu je LAMP předurčena k využití v polních podmínkách s ohledem na to, že vyžaduje jednodušší přístrojové vybavení.

- 5) **Uveďte, v čem je řízení LAMP jednodušší oproti běžné PCR.**

Odpověď:	
<b>body:</b>	

**Úloha 2 Značení proteinů****33 bodů**

Proteiny zřídka kdy exprimujeme samostatně. Často pro nás může být praktické upravit gen tak, aby se na konci proteinu nacházela další sekvence aminokyselin (může to být i další protein) mající pro nás nějaký praktický význam. Přestože svět takových značek je velmi pestrý, v této úloze se zaměříme na jednu z těch jednodušších, a přitom často používaných – histidinovou kotvu (označovanou také jako HisTag).

Histidinová kotva je sekvence (nejčastěji) šesti histidinů za sebou. V biochemii je využívána pro schopnost histidinu interagovat s dvojmocnými ionty (v praxi se nejčastěji používá  $Ni^{2+}$ ).

**1) Využijte své chemické cítění a popište, jakým způsobem funguje interakce mezi histidinem na  $Ni^{2+}$ . Kromě vysvětlení tuto interakci zakreslete za využití chemického vzorce histidinu.**

Odpověď:

histidin

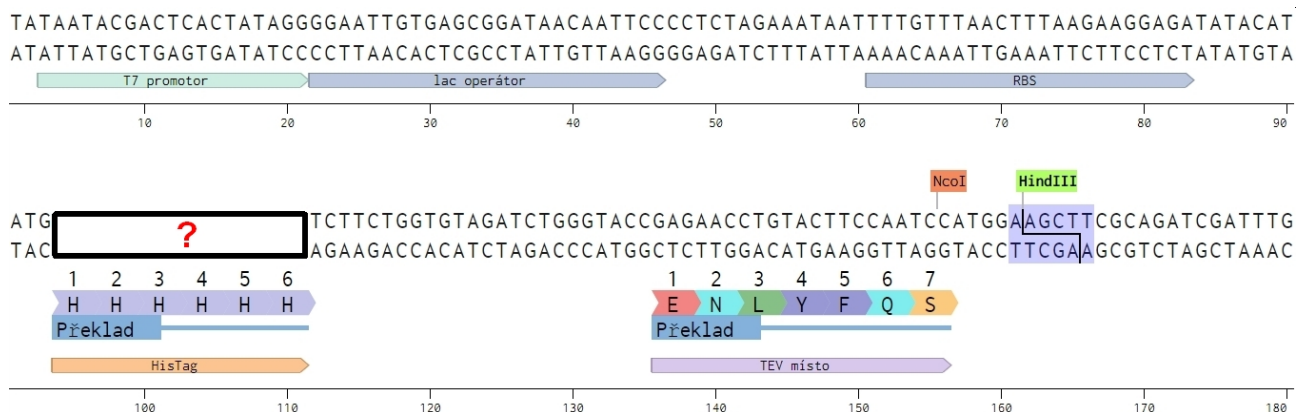
body:

**2) K čemu nám může být interakce histidinu s  $Ni^{2+}$  dobrá?**

Odpověď:

body:

Sekvenci histidinové kotvy si můžeme k našemu genu připojit např. pomocí PCR, kdy bychom náležitě modifikovali primery, častěji se ale využívá plasmidů, které již sekvenci pro expresi značky obsahují. Na obrázku níže (**Obrázek 6**) můžete vidět část jednoho takového plasmidu. Vybraná sekvence je vizualizována v podobě dvou komplementárních vláken a kvůli svojí délce je rozdělena na dva řádky. U úseků DNA majících zvláštní funkci je jejich funkce uvedena v barevném poli. Je-li to důležité, je u příslušných sekvencí uvedeno i jejich překlad na aminokyseliny. Níže je rovněž uvedeno kódující vlákno insertu, který budeme do plasmidu vkládat.



**Obrázek 6:** Část sekvence plasmidu nesoucího před polyklonovacím místem sekvenci histidinové kotvy. Vodorovná osa udává pořadí nukleotidů v této části sekvence. Translatovaná sekvence začíná na druhém řádku.



Kódující vlákno insertu:

```
5'-ATGGCTCTGTGGATGCGTCTGCTGCCGCTGCTGGCACTGCTGGCCCTGTGGGGCCCTGACCCGGCTGCGGCCTTCGTTAAT
CAGCATCTGTGCGGTTCCACCTGGTTGAGGCTCTGTACCTGGTATGCGAACGCGGTTTCTTCTACACGCCGAAAACCTCGTCGT
GAAGCTGAAGATCTGCAAGTAGGTCAGGTAGAACTGGGCGGTGGTCCAGGTGCAGGTTCTCTGCAACCGCTGGCACTGGAAGG
TAGCCTGCAGAAACGTGGCATCGTCGAGCAGTGTCTACTAGCATCTGTCCCTGTACCAGCTGGAGAATTACTGCAACTGA-3'
```

**3) Na který konec našeho proteinu bude histidinová kotva připojena?**

Odpověď: **na N-konec** / **na C-konec** (špatnou odpověď škrtněte)

**body:**

Uvedený obrázek jste si vytiskli na papír, naneštěstí vám vzápětí malé lokální tornádo vzalo laboratoř útokem, výsledkem čehož vznikla na papíře díra právě v místě, kde by měly být uvedeny nukleotidy kódující histidinovou kotvu. Protože vám tornádo zničilo i počítač a tiskárnu, nezbývá než sekvenci doplnit vlastními silami.

**4) Doplněte obě vlákna chybějící sekvence tak, aby kódovala histidinovou kotvu.**

Odpověď:

**body:**

Nyní je na čase vnést do našeho plasmidu insert. Opět budeme postupovat tak, že si na konce insertu připojíme místa pro restriční endonukleasy pomocí PCR za použití primerů s modifikovanými 5' konci. Pro forward primer se tu ale objevuje komplikace: protože translace je na tomto vektoru zahájena ještě před námi vloženou sekvencí, je tímto definován čtecí rámec, kterým se musíme při návrhu primeru řídit. Pro backward primer nás toto trápit nemusí; protože náš insert již obsahuje stop kodon, navrhne jej tedy stejně jako v krajském kole.

Pro vložení insertu jsme se rozhodli využít enzym HindIII, jehož štěpné místo je vyznačeno na obrázku. Zároveň si musíme pozorně prohlédnout sekvenci plasmidu, identifikovat čtecí rámec a případně vložit na určitou pozici v primeru určitý počet nukleotidů, abychom zařídili, že bude insert překládán ve stejném čtecím rámci, jako jemu předcházející sekvence. Tímto sice k našemu insertu přidáme další aminokyselinu, jedná se ale o oběť, kterou musíme podstoupit.

**5) Proč se musíme řídit čtecím rámcem definovaným sekvencí předcházející insertu?**

Odpověď:

**body:**



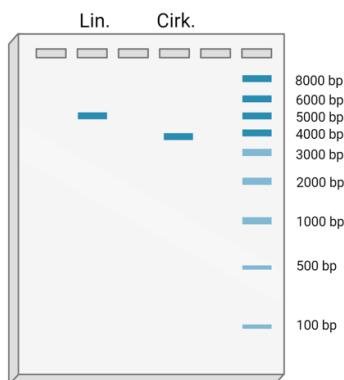
- 6) Kolik nukleotidů bude potřeba přidat do forward primeru, aby byl čtecí rámeček zachován i pro náš insert? Navrhněte sekvenci forward primeru, který využijete pro vložení insertu do uvedeného plasmidu pomocí HindIII. Primer bude kromě jiného sestávat z 15 nukleotidů dlouhého úseku kopírujícího sekvenci insertu a 5 nukleotidů dlouhého úseku zajišťujícího, aby se restrikční místo nenacházelo na konci řetězce.

Počet přidávaných nukleotidů:

Sekvence forward primeru: 5'-.....-3'

**body:**

Insert jsme si namnožili pomocí PCR s výše zmíněnými primery, čímž jsme na konce insertu připojili štěpná místa. Takto upravený insert jsme podrobili vám již známému restrikčnímu štěpení a purifikaci pomocí agarózové elektroforézy, smíchali jej se stejně upraveným vektorem a směs podrobili ligaci. Během purifikace vektoru štěpeného pomocí HindIII jsme do jedné jamky nanесли onen linearizovaný plasmid (Lin.) a do vedlejší jamky jsme nanесли kontrolní neštěpený plasmid. Výsledný elektroforeogram můžete vidět na obrázku (**Obrázek 7**).



**Obrázek 7:** Výsledek agarózové elektroforézy se štěpeným plasmidem (Lin.) a kontrolním neštěpeným plasmidem.

- 7) Proč se pruh příslušející neštěpenému plasmidu na gelu nenachází na úrovni markeru odpovídající jeho skutečné délce 5000 bp?

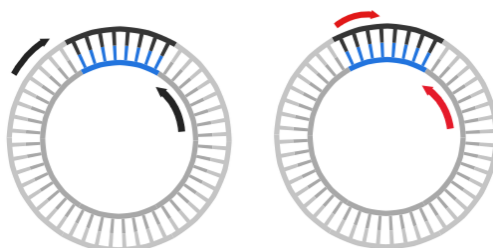
Odpověď:

**body:**

Vektor s vloženým insertem jsme nakonec transformovali do buněk *E. coli*, čímž jsme získali nárůst kolonií nesoucích vektorem kódovanou rezistenci. Bohužel jsme neměli k dispozici více restrikčních enzymů než HindIII, a tak stojíme před tím stejným problémem, jako v předchozích kolech; nemáme jistotu přítomnosti nebo správné orientace insertu.

Přítomnost či orientaci insertu můžeme ověřit i pomocí PCR. Díky znalosti sekvence plasmidu i insertu můžeme navrhnout primery pro různé účely a učinit závěr podle výsledků reakce. Máme několik možností, jak primery navrhnout, z nichž každá poskytuje trochu jiné informace. Dvě z nich můžete nalézt na obrázku níže (**Obrázek 8**). Na variantě vlevo jsou primery (reprezentovány šipkami) navrženy tak, aby nasedaly na sekvence vektoru v okolí polyklonovacího místa (podmínky 1). Na variantě vpravo nasedá jeden z primerů na sekvenci vektoru, druhý primer nasedá na insert (podmínky 2). Na obrázku je insert vložen ve správné orientaci. Insert má opět délku cca 1000 bp, vektor má délku cca 5000 bp.

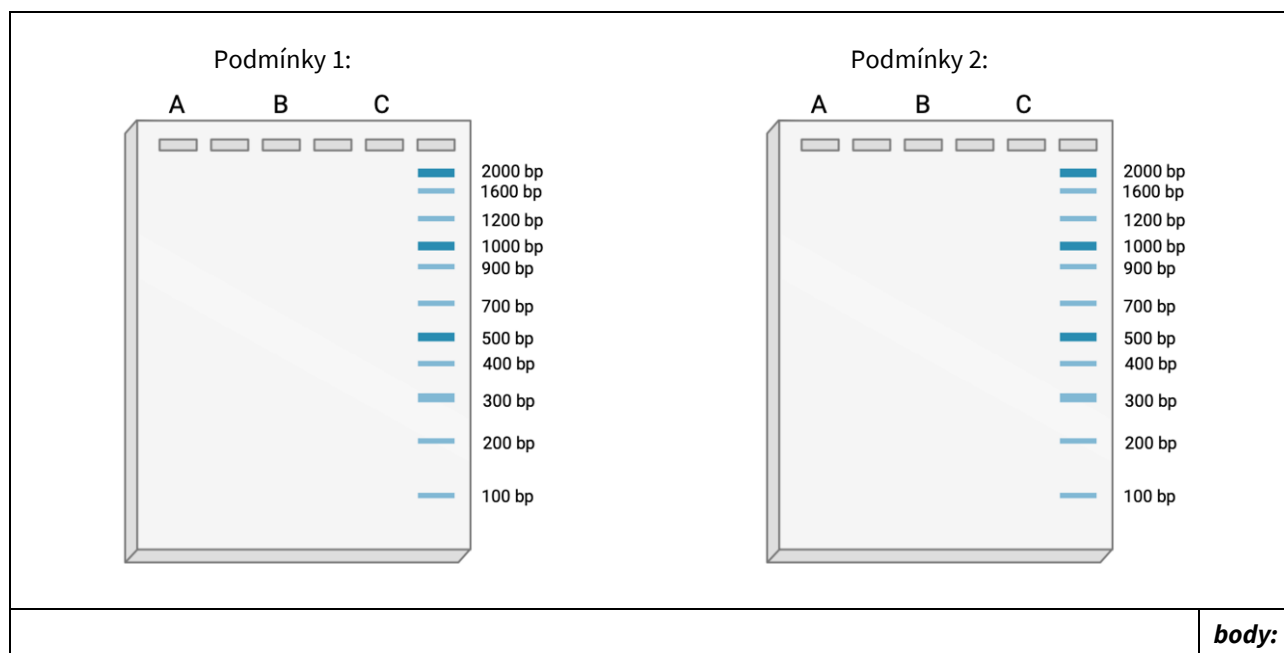




**Obrázek 8:** Znárodnění dvou sad primerů pro PCR sloužící k získání informací o insertu.

Uvažujeme izolovanou plasmidovou DNA s insertem ze dvou různých kultur ve zkumavkách **A** a **B** a plasmid bez insertu izolovaný ze třetí kultury ve zkumavce **C**. Tyto plasmidy použijeme jako templát pro PCR za podmínek 1 i za podmínek 2. Dále uvažujeme, že jsme do reakční směsi vložili tak malé množství templátu, že jej nedokážeme detekovat ethidium bromidem. Budeme schopni detekovat pouze produkt vzniklý potenciální exponenciální amplifikací. Uvažujte, že insert má délku cca 1000 bp, vektor má délku cca 5000 bp.

- 8) **Nakreslete, jak budou vypadat gely po obarvení ethidium bromidem za předpokladu, že ve zkumavce A byl plasmid se správně orientovaným insertem, v B byl plasmid s opačně orientovaným insertem a v C byl plasmid bez insertu.**



Možná jste si na obrázku 4 povšimli sekvence označené jako TEV místo. Po translaci zde vznikne aminokyselinová sekvence, ve které štěpí TEV proteasa. Jedná se o analogii s restriční endonukleasou a jejím restričním místem.

- 9) **Čeho dosáhneme inkubací produktu translace s TEV proteasou? Proč je občas nezbytné tento krok provést (např. má-li protein kódovaný insertem sloužit jako lék)?**

Odpověď:

**body:**

